

**Analyses microscopiques de points végétatifs
de *Sequoiadendron giganteum* jeunes et âgés
durant le repos végétatif et lors du débourrement (*)**

par Olivier MONTEUUIS

Association Forêt Cellulose, Domaine de l'Étançon, F-77370 Nangis
Laboratoire de Phytomorphogénèse, Université de Clermont II,
4 rue Ledru, F-63038 Clermont-Ferrand Cedex

Résumé. - Des analyses microscopiques ont été réalisées dans le but de comparer des points végétatifs de séquoias géants (*Sequoiadendron giganteum*) jeunes et âgés durant le repos végétatif hivernal et lors du débourrement. Pour les deux types de matériels, la reprise de croissance correspond à une augmentation significative de la concentration en ARN cytoplasmiques estimée par cytophotométrie. Les observations cytomorphologiques permettent d'établir des différences sensibles en fonction de l'âge des individus de référence. Lors du débourrement, les divers indices considérés présentent une plus grande similitude avec les caractéristiques des formes juvéniles.

Summary. - Microscopic analyses were achieved in order to compare apices of young and mature giant sequoias (*Sequoiadendron giganteum*) during rest phase and bud-break. For both materials, the beginning of growth was connected to a significant increase of cytoplasmic RNA content estimated cytophotometrically. Cytomorphologic characteristics pointed out noticeable differences related to the age of the donor plant. During bud-break, the various analytical criteria observed tended to the juvenile form characteristics.

Key words : apical meristems - bud-break - cytomorphological analyses - mature - rest period - *Sequoiadendron giganteum* - young.

*

* *

INTRODUCTION

L'étude des possibilités de clonage conforme de séquoias géants (*Sequoiadendron giganteum* Buchholz) jeunes et âgés (Monteuuis, 1985) nous a tout naturellement orientés vers les méristèmes apicaux caulinaires, à l'origine des processus de régénération végétative (Nozeran et coll., 1982 ; Hackett, 1985). Les observations relatives à la culture *in vitro* de ces structures minuscules (150 à 200 µm hors tout) révèlent une influence très nette de l'âge de la tête de clone et de

(*) Manuscrit reçu le 15 décembre 1988 ; accepté le 23 février 1989.

l'état physiologique au moment du prélèvement sur le comportement ultérieur des explants (Monteuuis, 1987a). Par rapport au repos végétatif hivernal, le débourrement correspond à une stimulation des capacités de clonage des méristèmes excisés et introduits en culture à cette période. Cet effet bénéfique est particulièrement sensible sur les explants provenant des sujets âgés, globalement moins réactifs que leurs homologues issus d'individus juvéniles. Ces constatations, étayées de dosages biochimiques connexes (Monteuuis et Gendraud, 1987), nous ont incités à poursuivre nos analyses au niveau microscopique.

MATERIEL ET METHODES

Origine des échantillons

Les méristèmes primaires caulinaires de *Sequoiadendron giganteum* observés proviennent d'un matériel jeune issu du bouturage d'un semis de 18 mois, et d'un matériel âgé constitué de greffes d'une tête de clone centenaire. Ces deux clones à port bas et diffus, obtenus deux ans auparavant et cultivés depuis lors à l'extérieur à l'Université de Clermont-Ferrand, sont représentatifs des deux classes d'âges considérées (Monteuuis, 1985). Les extrémités d'axes végétatifs étudiées sont récoltées durant le repos végétatif de janvier, puis lors du débourrement, début mai.

Préparation des échantillons

Les extrémités caulinaires végétatives débarassées de la quasi-totalité de leurs formations foliaires sont fixées dans le mélange : éthanol 95 %-formaldéhyde 40 %-acide acétique glacial (17/2/1, v/v/v), puis déshydratées par une série de bains d'alcool-toluène (Jensen, 1962) avant inclusion dans de la paraffine. Les coupes longitudinales médianes de 7 μ m d'épaisseur analysées en microscopie optique ont été colorées par l'Azur B, selon la technique préconisée par Jensen (1962), en vue de l'estimation par cytophotométrie des teneurs en ARN (Riding, 1976 ; Davies, 1984).

Méthodes d'analyses, mesures et traitements des données

Les coupes de matériel jeune et de matériel âgé ont été systématiquement appariées tout au long de la procédure de coloration à l'Azur B. Pour chaque série, nous avons très scrupuleusement suivi les indications de Jensen (1962), notamment en ce qui concerne la durée et la concentration des différents bains de traitement. Les teneurs en ARN cytoplasmiques, après avoir vérifié la spécificité de la réaction à l'Azur B (Jensen, 1962), sont mesurées à l'aide d'un cytophotomètre Reichert pour la longueur d'onde de 665 nm (Jensen, 1962 ; Davies, 1984), valeur retenue à partir de la courbe d'extinction préalablement établie. Dix relevés par méristème observé ont été effectués de façon aléatoire dans des cellules réparties dans le "méristème de flanc" périphérique (Cross, 1943 ; Romberger, 1963 ; Schüepp, 1966), encore appelé "euméristème" (Camefort, 1956).

Les contours des points végétatifs observés, ainsi que des cellules et des noyaux qu'elles renferment, sont reportés au moyen d'une chambre claire et en précisant l'échelle, sur une feuille de papier afin de réaliser les relevés cytomorphométriques correspondants. Les mesures des cellules et noyaux ont été établies essentiellement au moyen d'un traceur d'images Leitz ASM 68 K, en assimilant ces structures à des sphères, modèle de référence le plus satisfaisant (Schüepp, 1966). Les observations se rapportent à un échantillonnage représentatif de l'ensemble de la partie sommitale du dôme méristématique définie par la hauteur h par rapport au méristème médullaire et le diamètre d à ce niveau (Pl. I), après avoir constaté, en accord avec Cross (1943), que les critères cytomorphologiques d'analyse retenus ne justifiaient pas de distinguer une zonation au sein du territoire d'investigation ainsi circonscrit.

L'activité mitotique est exprimée par le nombre moyen de mitoses détectées, par coupe longitudinale médiane de dômes méristématiques, jusqu'au niveau d'apparition du plus jeune primordium observé (Gifford et Corson, 1971).

Les mesures expérimentales sont exprimées sous forme de moyennes rapportées à l'effectif N d'observations effectuées par variante de traitement, et en précisant l'intervalle de confiance établi au seuil $p_0 = 5\%$ (Snedecor et Cochran, 1957).

Les influences respectives des facteurs expérimentaux "âge" - matériel jeune ou âgé - et "stade végétatif" - repos ou débourrement - sur les critères observés présentant le plus d'intérêt, ont été mises en évidence au moyen d'analyses de variance à deux critères de classification en précisant le degré de signification p correspondant (Snedecor et Cochran, 1957).

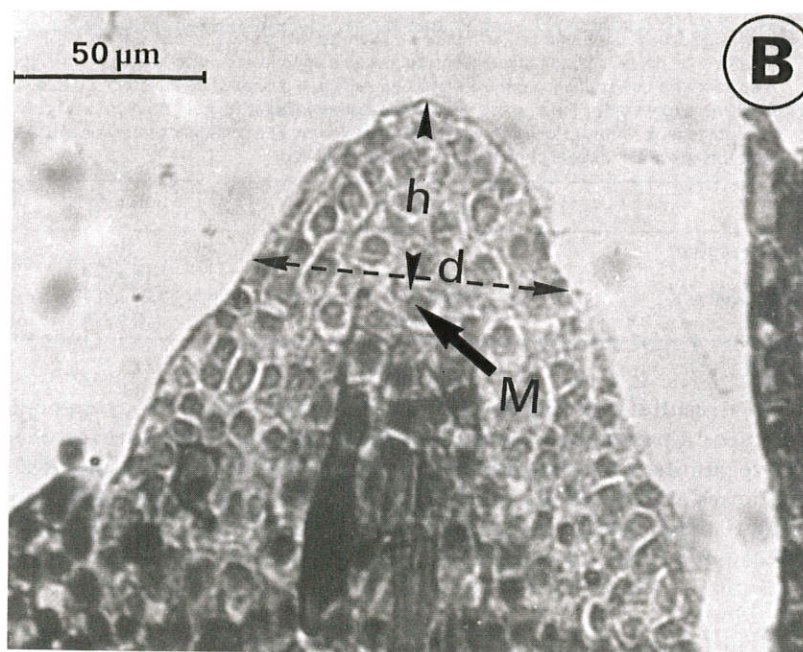
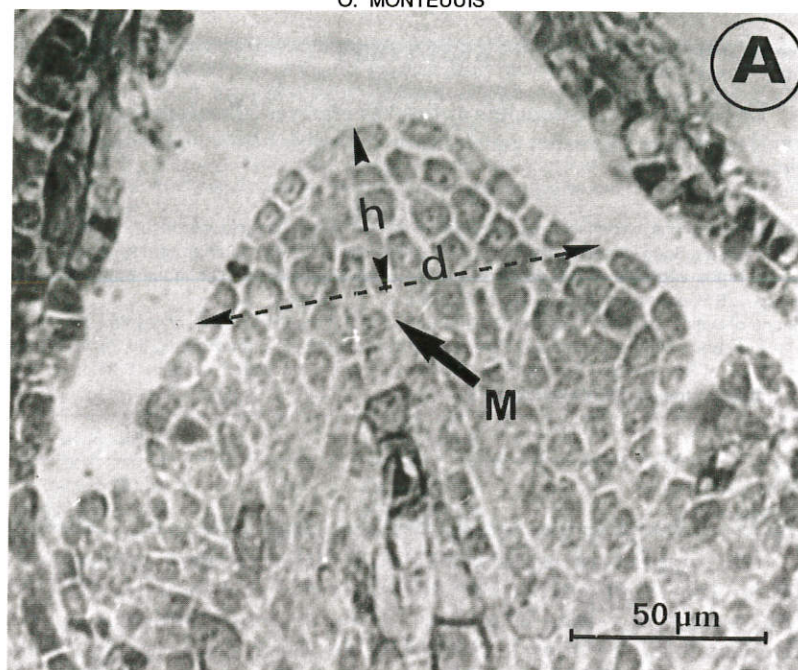


Planche I.- Coupes longitudinales de points végétatifs de *Sequoiadendron giganteum* jeunes (A) et âgés (B) lors du débourrement. d et h, respectivement le diamètre et la hauteur, sont définis à partir du méristème médullaire M.

Plate I.- Median longitudinal sections of shoot apices of young (A) and mature (B) *Sequoiadendron giganteum* at the time of bud-break. d and h, the diameter and the height respectively, are defined from the pith meristem M.

RESULTATS

Les moyennes de densités optiques relatives à l'estimation des teneurs en ARN cytoplasmiques figurent, pour chaque combinaison expérimentale, dans le tableau I.

Tableau I.- Résultats moyens, en densité optique, des teneurs en ARN cytoplasmiques mesurées par cytophotométrie à 665 nm dans le méristème de flanc de points végétatifs de séquoias géants jeunes et âgés durant le repos végétatif et lors du débourrement. Les intervalles de confiance ont été établis au seuil $p_0 = 5\%$ pour un effectif observé $N = 22$.

Table I.- Means of optical density measurements at 665 nm of cytoplasmic RNA contents within the meristem peripheral zone of young and mature *Sequoiadendron giganteum* during the rest period and at the time of bud-break. The confidence intervals were calculated at $p_0 = 0.05$ level for $N = 22$ measurements per combinaison.

	Sujets jeunes	Sujets âgés
Repos végétatif	$0,161 \pm 0,038$	$0,182 \pm 0,047$
Débourrement	$0,379 \pm 0,124$	$0,362 \pm 0,141$

Par rapport au repos végétatif, le débourrement correspond à une augmentation très significative ($p < 0,001$) de la concentration des ARN cytoplasmiques et, comme le reflète le tableau II, de l'activité mitotique ($p < 0,001$), essentiellement localisée dans le méristème de flanc. En revanche, aucune influence notable de l'âge de la tête de clone sur ces deux indices n'a pu être décelée.

Tableau II.- Activité mitotique, exprimée par le nombre moyen de mitoses détectées par coupe longitudinale médiane de dôme méristématique jusqu'au niveau d'apparition du plus jeune primordium observé. Les intervalles de confiance ont été établis au seuil $p_0 = 5\%$ pour un effectif N indiqué.

Table II.- Mitotic activity expressed by the average number of mitoses detected for each median longitudinal section of meristematic dome up to the youngest leaf primordium. The confidence intervals at $p_0 = 0.05$ level and the relevant numbers of observations N are indicated.

	Sujets jeunes	Sujets âgés
Repos végétatif	0 ($N = 30$)	0 ($N = 30$)
Débourrement	$1,05 \pm 0,42$ ($N = 39$)	$0,89 \pm 0,40$ ($N = 53$)

Les résultats correspondant aux différentes mesures cytomorphologiques, effectuées à partir de l'échantillonnage de coupes longitudinales médianes des points végétatifs, sont récapitulés dans le tableau III. Les volumes des dômes méristématiques ont été établis par calcul intégral à partir des modélisations des contours méristématiques, résultats d'une précédente étude (Monteuuis, 1987b). Ces données ont permis de calculer les nombres moyens de cellules correspondants, à partir des dimensions cellulaires unitaires, et conformément au modèle sphérique adopté.

L'influence des deux facteurs expérimentaux "âge" et "état végétatif" qui apparaît à travers le tableau III pour l'ensemble des indices morphométriques, a été plus particulièrement analysée pour le rapport d/h , le rapport nucléoplasmique, le volume du dôme méristématique et l'effectif cellulaire correspondant. Les résultats sont synthétisés sous forme d'histogrammes dans le tableau IV.

Tableau III.- Données cytomorphologiques moyennes établies à partir de coupes médianes longitudinales de méristèmes primaires caulinaires de séquoias géants jeunes et âgés durant le repos végétatif et lors du débourrement. Les intervalles de confiance précisés ont été calculés au seuil $p_0 = 5\%$ à partir de l'effectif N observé.

Table III.- Means of cytomorphologic measurements established for each median longitudinal section of shoot apices of young and mature giant sequoias observed during the rest period and at the time of bud-break. The confidence intervals at $p_0 = 0.05$ level and the relevant numbers observations N are indicated.

	REPOS VEGETATIF		DEBOURREMENT	
	sujets jeunes	sujets âgés	sujets jeunes	sujets âgés
<u>Données linéaires</u> <u>en μm</u>				
épaisseur des parois	$0,80 \pm 0,05$ N = 130	$0,82 \pm 0,05$ N = 130	$0,93 \pm 0,04$ N = 320	$0,92 \pm 0,04$ N = 320
rayon cellulaire intérieur	$5,41 \pm 0,16$ N = 76	$5,87 \pm 0,16$ N = 81	$6,63 \pm 0,15$ N = 96	$6,23 \pm 0,20$ N = 96
rayon cellulaire extérieur	$6,21 \pm 0,21$ N = 76	$6,69 \pm 0,21$ N = 81	$7,56 \pm 0,19$ N = 96	$7,15 \pm 0,24$ N = 96
rayon nucléaire	$3,41 \pm 0,20$ N = 76	$3,61 \pm 0,10$ N = 81	$4,53 \pm 0,12$ N = 96	$4,20 \pm 0,13$ N = 96
hauteur h entre le méristème médullaire et le sommet	$51,75 \pm 2,98$ N = 30	$57,54 \pm 3,79$ N = 30	$59,65 \pm 3,02$ N = 39	$57,37 \pm 3,30$ N = 53
diamètre d au niveau du méristème médullaire	$115,79 \pm 5,96$ N = 30	$91,40 \pm 5,79$ N = 30	$137,11 \pm 5,30$ N = 39	$125,39 \pm 6,49$ N = 53
rapport d/h	$2,24 \pm 0,07$ N = 30	$1,70 \pm 0,08$ N = 30	$2,35 \pm 0,14$ N = 39	$2,19 \pm 0,07$ N = 53
équation du contour méristématique (Monteuuis, 1987b)	$y = 0,41 x^{1,60}$ N = 30	$y = 0,57 x^{1,80}$ N = 30	$y = 0,41 x^{1,34}$ N = 30	$y = 0,46 x^{1,51}$ N = 30
<u>Données en volume</u> <u>en μm^3</u>				
volume cellulaire Vc	698 ± 64 N = 76	891 ± 74 N = 81	1270 ± 85 N = 96	1093 ± 109 N = 96
volume nucléaire Vn	207 ± 19 N = 76	205 ± 17 N = 81	409 ± 32 N = 96	332 ± 32 N = 96
volume cellulaire, paroi comprise	1003 ± 105 N = 76	1254 ± 123 N = 81	1810 ± 140 N = 96	1531 ± 159 N = 96
rapport nucléoplas- mique Vn/(Vc - Vn)	$0,46 \pm 0,04$ N = 76	$0,32 \pm 0,03$ N = 81	$0,52 \pm 0,05$ N = 96	$0,52 \pm 0,06$ N = 96
équation du volume du dôme méristématique	$V = 4,25 y^{2,25}$	$V = 2,78 y^{2,11}$	$V = 4,77 y^{2,49}$	$V = 3,78 y^{2,32}$
Volume du dôme méristématique pour y = h	$[31,4 \pm 3,6] \times 10^3$ N = 30	$[14,6 \pm 1,9] \times 10^3$ N = 30	$[131,1 \pm 15,0] \times 10^3$ N = 39	$[48,7 \pm 5,9] \times 10^3$ N = 53
nombre de cellules correspondant (y = h)	$31,4 \pm 3,6$	$11,8 \pm 1,5$	$72,4 \pm 8,3$	$31,8 \pm 3,9$

L'influence de l'état végétatif apparaît de façon très significative ($p < 0,001$) indifféremment pour chacun de ces quatre mêmes critères. Le débourrement correspond à une augmentation très nette des valeurs obtenues durant le repos végétatif, qui avoisinent alors les résultats caractérisant le matériel jeune.

Consécutivement aux analyses de variance appliquées, la mise en évidence d'une très forte interaction âge x état végétatif ($p < 0,001$) incite à considérer les résultats relatifs à chaque combinaison expérimentale.

En ce qui concerne le rapport nucléoplasmique, il est intéressant de noter que la différence entre le matériel jeune et le matériel âgé, très prononcée durant le repos végétatif, s'estompe au stade débourrement. Cette tendance s'applique, mais dans une moindre mesure, au rapport d/h qui préfigure malgré tout que si le débourrement est associé à un accroissement des résultats obtenus durant le repos végétatif, les valeurs élevées peuvent demeurer l'apanage du matériel jeune. Ceci est pleinement vérifié dans le cas du volume du dôme méristématique et de son effectif cellulaire, où les différences entre matériel jeune et âgé persistent de façon très marquée, que ce soit durant le repos végétatif ou le débourrement.

DISCUSSION

A l'instar d'autres Gymnospermes (Camefort, 1954 ; Gifford et Corson, 1971 ; Owens et Molder, 1973), la reprise de croissance dans les méristèmes caulinaires végétatifs de *Sequoiadendron giganteum* s'accompagne d'une nette augmentation, par rapport au repos végétatif, des ARN, essentiellement localisés dans le cytoplasme des cellules de méristème de flanc (Camefort, 1954, 1956 ; Riding et Gifford, 1973 ; Riding, 1976). Cet accroissement des ARN et de l'activité mitotique sous l'effet d'agents extérieurs plus favorables correspond vraisemblablement à une stimulation générale du métabolisme, comme l'illustrent les dosages biochimiques d'acides nucléiques, de nucléotides et les analyses des systèmes traductionnels effectués sur les mêmes échantillons (Monteuuis et Gendraud, 1987 ; Bon, 1988).

Conjointement, les méristèmes prélevés à cette période en vue du clonage expriment en culture *in vitro* des facultés organogènes bien supérieures à leurs homologues excisés de bourgeons en repos végétatif hivernal (Monteuuis, 1987a). Plusieurs travaux (Trippi et Brulfert, 1973 ; Riding, 1976 ; Davies, 1984) ont permis d'établir, de façon similaire, que l'aptitude à la multiplication végétative était d'autant plus développée que les teneurs en ARN des méristèmes caulinaires étaient élevées.

Des analyses antérieures ont montré une influence significative du stade végétatif et de l'âge de la tête de clone sur la conformation des dômes méristématiques (Monteuuis, 1987b), plus volumineux pour le matériel jeune et lors du débourrement, comparativement au matériel âgé et au repos végétatif. Cette tendance s'exprime de façon plus immédiate par les valeurs du quotient d/h, inspiré des travaux de Tepper (1963), Owston (1969) et Riding (1976) que nos résultats confirment, et défini à partir du méristème médullaire (voir planche I). Signalons à ce propos, l'intérêt de cette référence anatomique judicieuse qui permet, pour certaines analyses, de circonscrire sans ambiguïté le champ d'investigations au sommet du méristème, secteur déterminant du point de vue ontogéni-

que (Cross, 1943 ; Camefort, 1956 ; Gifford et Corson, 1971). Les effets des deux facteurs expérimentaux étudiés s'illustrent également par les modifications des indices cytomorphologiques infra-méristématiques établis, conformes aux valeurs communiquées par Cross (1943). Ainsi, il est intéressant de remarquer, entre autres, que les cellules du clone jeune deviennent plus grandes que celles du clone âgé lors de la reprise de croissance, confirmant alors les observations de Stein et Fosket (1969) sur des extrémités caulinaires végétatives d'*Hedera helix* poussant. L'ensemble de ces divers éléments structuraux permet d'établir que les points végétatifs de jeunes séquoias géants sont plus volumineux et renferment plus de cellules que leurs homologues issus d'individus âgés. Ce résultat, vérifié aussi bien durant le repos végétatif que lors du débourrement, singularise notre matériel d'étude par rapport à d'autres, non arborescents et cultivés *in vitro* dans un environnement très particulier il est vrai (Watelet-Gonod et Favre, 1981). Des observations et des analyses connexes (Monteuuis, 1987a) suggèrent que l'aptitude au clonage *in vitro* de points végétatifs de *Sequoiadendron giganteum* pourrait être positivement corrélée à l'effectif cellulaire du dôme méristématique.

Le bilan synthétique de l'ensemble des analyses présentées confère au facteur "âge", et surtout au facteur "état végétatif", une influence primordiale vis-à-vis des critères microscopiques observés. Plus précisément, le stade débourrement correspond à un accroissement très net des mesures établies au moment du repos, qui tendent alors à atteindre les valeurs caractéristiques du matériel jeune, comme le reflètent notamment les histogrammes du tableau IV. Ces remarques qui corroborent les analyses biochimiques et les observations de culture *in vitro* réalisées sur le même matériel (Monteuuis, 1987a ; Monteuuis et Gendraud, 1987), constituent un argument supplémentaire en faveur de l'interprétation du vieillissement cyclique réitéré des méristèmes primaires au cours de la croissance des unités successives de morphogenèse (Krenke, 1940 ; Franclet, 1983).

CONCLUSION

La présente étude révèle de réelles différences cytomorphologiques au sein de points végétatifs caulinaires de séquoias géants, liées à l'âge des individus. Ce résultat atteste que le phénomène de maturation des végétaux ligneux peut se manifester jusque dans les méristèmes primaires, et confirme par là même les présomptions basées sur des dissemblances remarquées pour plusieurs espèces arborescentes en culture *in vitro*, en fonction de l'âge de la tête de clone (Bekkaoui et coll., 1985 ; Monteuuis, 1987a).

D'un point de vue théorique, les points végétatifs peuvent susciter beaucoup d'espairs pour le clonage conforme d'arbres âgés en raison des concepts de juvénilité et de totipotentialité associés à la notion même de méristème (Margarra, 1982). Il semble que la situation réelle soit plus nuancée à travers la prise en considération, en fonction de l'âge des sujets de référence, de l'influence de l'état physiologique, appréhendée sur notre matériel à partir de stades phénologiques très contrastés - repos végétatif ou débourrement. L'importance de ce paramètre prend toute sa signification si, comme le prétendent Buvat (1955) et Romberger (1963), le devenir organogène des méristèmes demeure étroitement dépendant de leur contexte physiologique. Plusieurs observations nous ont permis de vérifier le bien-fondé de cette opinion qui incite à considérer l'analyse de potentialités

ontogéniques des méristèmes primaires en tenant compte de l'aspect évolutif de leurs caractéristiques en fonction du temps et de l'environnement extérieur, ainsi que de leur situation topologique au sein du végétal (influence des systèmes corrélatifs). Ces arguments justifient, en matière de clonage, les opérations de conditionnement physiologique des pieds-mères, tout en tirant profit de la variabilité constatée pour sélectionner les structures végétatives - points végétatifs, territoires méristématiques, voire cellules - les plus juvéniles, et par là même, les plus prometteuses.

Remerciements. - Je tiens à remercier le Dr. Maryse Tort, du laboratoire de Phytomorphogenèse de l'Université de Clermont II, pour ses précieux conseils en matière d'analyses cytologiques, ainsi que Mme Simonne Genestier, du même laboratoire, pour sa participation efficace à la préparation des échantillons.

BIBLIOGRAPHIE

- BEKKAQUI F., A. FRANCKET et N. WALKER, 1985.- Culture *in vitro* de méristèmes de Douglas âgé et juvénile. Ann. AFOCEL 1984, 45-85.
- BON M.C., 1988.- Nucleotide status and protein synthesis *in vivo* in the apices of juvenile and mature *Sequoiadendron giganteum* during budbreak. *Physiol. Plant.*, 72, 796-800.
- BUVAT R., 1955.- Le méristème apical de la tige. *L'Année Biologique*, 31, 595-656.
- CAMEFORT H., 1954.- Présence et localisation de l'acide ribonucléique dans le point végétatif de quelques Gymnospermes. *C. R. Acad. Sci.*, 238, 922-924.
- CAMEFORT H., 1956.- Etude de la structure du point végétatif et des variations phyllotaxiques chez quelques Gymnospermes. *Ann. Sci. Nat. Bot.*, 17, 1-185.
- CROSS G.L., 1943.- A comparison of the shoot apices of the sequoia. *Amer. J. Bot.*, 30, 130-142.
- DAVIES F.T., 1984.- Shoot RNA, cambial activity and indole butyric acid effectivity in seasonal rooting of juvenile and mature *Ficus pumila* cuttings. *Physiol. Plant.*, 62, 571-575.
- FRANCKET A., 1983.- Rejuvenation : theory and practical experiences in clonal silviculture. In : *Clonal Forestry Proceedings*, XIXth, II. Zsuffa, Rauter, 37 (2), 143-299.
- HACKETT W.P., 1985.- Juvenility, maturation and rejuvenation in woody plants. *Hort. Rev.*, 7, 109-155.
- JENSEN W.A., 1962.- Botanical histochemistry. Freeman and Co., éd., San Francisco et Londres, 408p.
- KRENKEN P., 1940.- The theory of the cycle of senescence and rejuvenation of plants and its practical application. *Plant Breed. Abstr.*, 15 (181), 1-135.
- MARGARA J., 1982.- Bases de la multiplication végétative. INRA, éd., Versailles, 262p.
- MONTEUUIS O., 1985.- La multiplication végétative du séquoia géant en vue du clonage. Ann. AFOCEL 1984, 139-171.
- MONTEUUIS O., 1987a.- *In vitro* meristem culture of juvenile and mature *Sequoiadendron giganteum*. *Tree Physiol.*, 3, 265-272.
- MONTEUUIS O., 1987b.- Profils méristématiques de séquoias géants (*Sequoiadendron giganteum* Buchholz) jeunes et âgés durant les stades de repos végétatif et de débourrement. *C. R. Acad. sci.*, Paris, 305, 715-720.
- MONTEUUIS O. et M. GENDRAUD, 1987.- Nucleotide and nucleic acid status in shoot tips from juvenile and mature clones of *Sequoiadendron giganteum* during rest and growth phases. *Tree Physiol.*, 3, 257-263.
- NOZERAN R., G. DUCREUX et L. ROSSIGNOL-BANCILHON, 1982.- Réflexions sur les problèmes de rajeunissement chez les végétaux. *Bull. Soc. bot. Fr., Lettres bot.*, 129 (2), 107-130.
- OWENS J.N. et M. MOLDER, 1975.- Bud development in western hemlock. I. Annual growth cycle of vegetative buds. *Can. J. Bot.*, 51, 2223-2231.
- OWSTON P.W., 1969.- The shoot apex in eastern white pine : its structure, seasonal development and variation within the crown. *Can. J. Bot.*, 47, 1181-1118.
- RIDING R.T., 1976.- The shoot apex of trees of *Picea mariana* of differing rooting potential. *Can. J. Bot.*, 54, 2672-2678.
- RIDING R.T. et E.M. GIFFORD, 1973.- Histochemical changes occurring at the seedling shoot apex of *Pinus radiata*. *Can. J. Bot.*, 51, 501-512.
- ROMBERGER J.A., 1963.- Meristems, growth and development in woody plants. U.S. Dep. Agr. Tech. Bull., éd., 214p.
- SCHUEPP O., 1966.- Meristeme. Birkhäuser, éd., Basel et Stuttgart, 253p.

- SNEDECOR G.W. et COCHRAN W.G., 1957.- Méthodes statistiques. ACTA, éd., Paris, 649p.
- STEIN O.L. et E.B. FOSKET, 1969.- Comparative developmental anatomy of shoots of juvenile and adult *Hedera helix*. Amer. J. Bot., 56 (5), 546-551.
- TEPPER H.B., 1963.- Dimensional and zonal variation in dormant shoot apices of *Pinus ponderosa*. Amer. J. Bot., 50 (6), 589-596.
- TRIPPI V.S. et J. BRULFERT, 1973.- Photoperiodic aging in *Anagallis arvensis* clones : its relation to RNA content, rooting capacity and flowering. Amer. J. Bot., 60 (10), 951-955.
- WATELET-GONOD M.C. et J.M. FAVRE, 1981.- Miniaturisation et rajeunissement chez *Dahlia variabilis* (variété Télévision) cultivé *in vitro*. Ann. Sci. Nat. Bot., 13 (2-3), 51-67.